

Sublancin 168

Figure 1

Lantibody Display Peptide

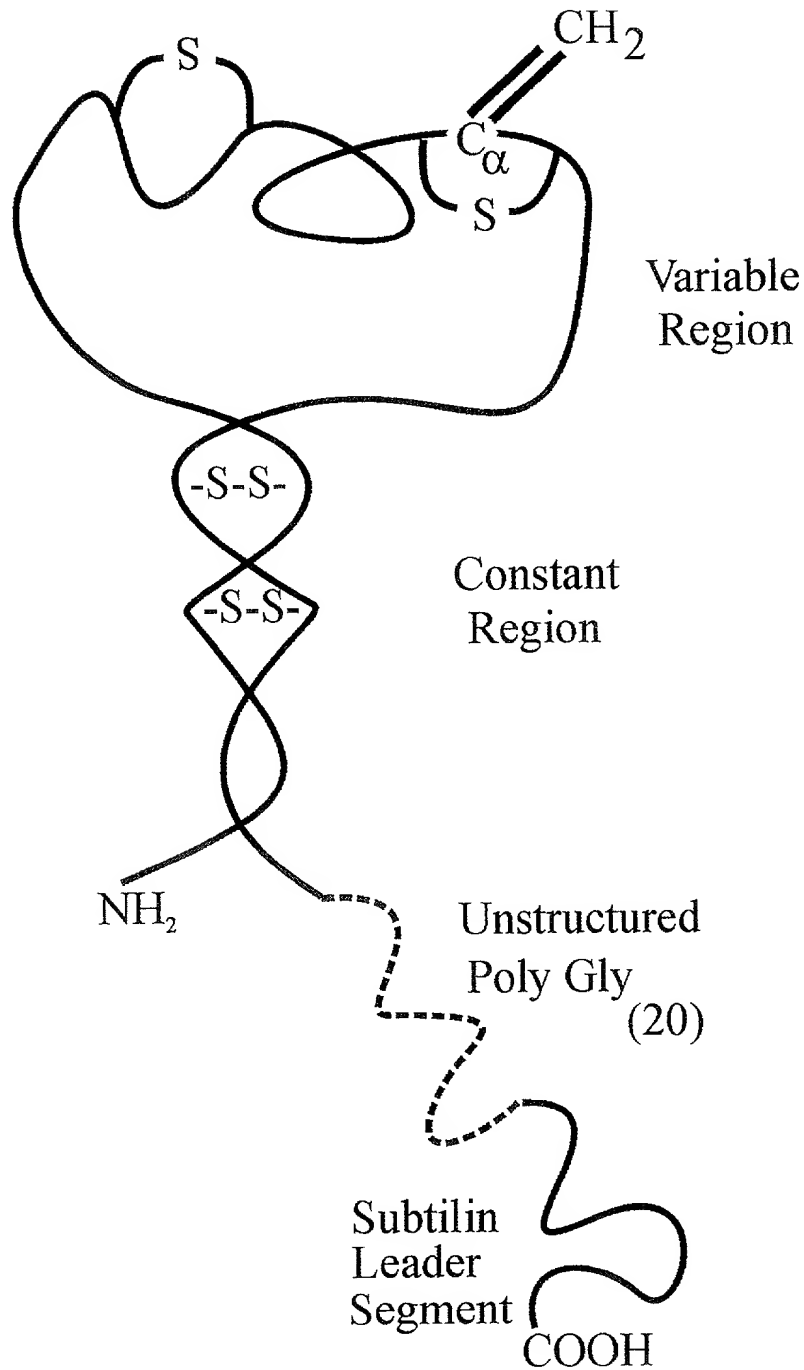


Figure 2

AGAAGTGTCTCAGTCACGTTATCGAATATTGAGGATGATGTTAATCAGCAGCTGAGTTTATTGGAAGTGG
ATAATGAAAAGAGAAGGAACTCGGTTTTGTAATGGATGGGATTAGAAGTAAATACGGCTCTAAAGCGAT
LPHF1--->
TCTGAGAGCAGTTTCTTATACACCAGCAGGAACCTGCACTTCAACGAGCTGGATTAACAGGTGGGCATAAG
AGTTAAGATAAAATTTAACTTATATAACACATCGCTTAAAGTTTTTTTGTGTTTAAAACTTAAAAACAT
|-----> *yolF* ----->
GGTAAATTATATAAAAAACATAAGAAAGAGTGATTAT ATGGAATATGTAGTTATGATAATCATTATTATTA
GCACTTTTCTTTATTTTTTACTGTTTTCTTAAATACACGTTATAGTTTTGATGAAAAATGCTTAGTCTTAA
AATTTGGTTTATCTAAACAGAAATCCAATTAATCAAATAGTTAGTATTAAAGAGTCAGACAAGTATGG
AGTTGCAGATAATATCGATTATAAAATTGGTATGCCATATGCTCAACCAGATAGAATTGTTATTGAACT
<----- *yolF* <----->
ACAAATAAGCGTTTTCTAGTTTTTTTAAATGGAGCTCAACAATTTATTCAAAAAGTATAAAAGGGTTAGTG
--|
TT TGAACATAAAAAAGTACCTTCTTACAATAGAAGGTACTTTTTTGTATCTATAATTATTAATAATTTAC
CTAAATTTTTTATCATTATTAATTCAAAATAAATCCATAATAGTCAATTTTATTAGTGTATTACAACCAA
<---LPHR1, (LPHF2, LPVF2-->
TTCTGTTTATTGATAGGTAATAAAGTTTTTTTTCTATGATTTATGAACAAGTTTCCTTATAATTTTCAAA
-35 -10
AAAAAATAAAAAATATGGTTGAATTTAGATTTATCTTCCTTTATATTAAAAATGTAATCCGGATTGCAA
r.b.s. |-----> *sunA* leader region----->
ACAAATGGGGAGGTTTTTACAA ATGGAAAAGCTATTTAAAGAAGTTAACTAGAGGAACTCGAAAACCAA
<---LPHR2 <---LPVR2 NLPVF3----->
sunA mature region ----->
AAGGTAGT GGATTAGGAAAAGCTCAGTGTGCTGCGTTGTGGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGG
<----- *sunA* <-----> Pst I |
TTGTGGTGGCGGAGCTGTTGCTTGTCAAAAC TATCGTCAATTCTGCAGA TAAACATTTGTAGAGGGAAT
LPVF4---> LPHF3--->
<---LPPMR2
|-----> *sunT* ----->
ATTTTAAATATTCCCTCATATTTAAAGCGGGGATTGAAA TTGAATAAGAAAAAGAAATATGTTTCATACTA
AACAGTTTAAATAGTCATGATTGTGGACTAGCTTGTATCTCGTCAATTTTAAAGTTTCATAACCTTAACTA
TGGAATTGATTTCTTACTAGACCTAATTGGGGATAAGGAAGGCTATAGTTTAAAGAGACTTAATTGTTATT
TTTAAGAAGATGGGGATAAAAACTAGGCCACTTGAATTGCAAGAAAATAAGACATTCGAAGCCCTAAAC
AAATAAAGCTCCCTGTATAGCTTTGTTAGAAGGGGAGGAATATGGACATTACATAACAATATACGAAAT
TAGAAATAACTATTTACTTGTAGTGATCCTGATAAAGACAAAATAACTAAAATAAAAAAGAGGATTTT
GAAAGTAAATTCACAACTTTATATTAGAAATTGACAAAGAGTCAATTCCTGAAAAAGAAAAAGATCAA
AAAAACATTCCTTACTTTTTTAAGGACATACTTTTTAGAAATAAATTGATCGTTTTTGTGATTTTATTGAC
TTCCTTGTTGCTTGTGGGTCTTGCTGTAGCTGGGTGTTTTATATAAAGTTTCTAGTTGACCT----->
<---LPHR3 & LPVR4 -----> *sunT* ----->

Figure 3

EcoRI

pTZ sequence <-----GAATTCCGGCTCTAAAGCGAT

TCTGAGAGCAGTTTCTTATACACCAGCAGGAACTGCACTTCAACGAGCTGGATTAAACAGGTGGGCATAAG
AGTTAAGATAAAATTTAAACTTATATAACACATCGCTTAAAGTTTTTTTGTCTTTAAAAACTTAAAAACAT
GGTAAAATTATATAAAAAACATAAGAAAGAGTGATTATATGGAATATGTAGTTATGATAATCATTCTTATTA
GCACTTTTCTTTATTTTTTACTGTTTTCTTAAATACACGTTATAGTTTTGATGAAAAATGCTTAGTCTTAA
AATTTGGTTTATCTAAAAACAGAAATTCCAATTAATCAAATAGTTAGTATTAAAGAGTCAGACAAGTATGG
AGTTGCAGATAATATCGATTATAAAATTTGGTATGCCATATGCTCAACCAGATAGAATTGTTATTGAAACT
ACAAAATAAGCGTTTTCTAGTTTTTTTAAATGGAGCTCAACAATTTATTCAAAGTATAAAAGGGTTAGTG
TTTGAACATAAAAAAGTACCTTCTTACAATAGAAGGTACTTTTTTGTATCTATAATTATTAAAAATTTAC
CTAAATTTTTATCATTATTAATTCAAAATAAATCCATAATAGTCAATTTTATTTAGTGTATTACAACCAA

Bam HI (~900 bp) Bam HI

TTC GGATCC <----cat-----> GGATTCGTGTATTACAACCAATTC TGTATTATTGATAGGTAATAAA
GTTTTTTTCTATGATTATGAACAAGTTTCCTTATAATTTTCAAA

AAAAATAAAAAATATGGTTGAATTTAGATTTATCTTCTTTTATATTAAAAAATGTAATCCGGATTGCAA

| Sublancin leader -----> Xho I

ACAAATGGGGAGGTTTACAA **ATGGAAAAGCTATTTAAAGAAGTTAAACTCGAGGAACTCGAAAACCAA**

| Sun A ----->

AAGGTAGT GGATTAGGAAAAGCTCAGTGTGCTGCGTTGTGGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGG

Pst I |

TTGTGGTGGCGGAGCTGTTGCTTGTCAAACTATCGTCAATTCTGCAGA TAAACATTTGTAGAGGGAAT

ATTTTAAATATTCCTCATATTTAAAGCGGGGATTGAAATTGAATAAGAAAAAGAAATATGTTCACTA
AACAGTTTAAATAGTCATGATTGTGGACTAGCTTGTATCTCGTCAATTTTAAAGTTTCATAACCTTAACTA
TGGAATTGATTTCTTACTAGACCTAATTGGGGATAAGGAAGGCTATAGTTTAAAGAGACTTAATTGTTATT
TTTAAGAAGATGGGGATAAAAACTAGGCCACTTGAATTGCAAGAAAATAAGACATTTCGAAGCCCTAAAC
AAATAAAGCTCCCTTGTATAGCTTTGTTAGAAGGGGAGGAATATGGACATTACATAACAATATACGAAAT
TAGAAATAACTATTTACTTGTAGTGATCCTGATAAAGACAAAATAACTAAAATAAAAAAGAGGATTTT
GAAAGTAAATTCACAACTTTATATTAGAAATTGACAAAGAGTCAATTCCTGAAAAAGAAAAAGATCAAA
AAAAACATTCTTACTTTTTTAAGGACATACTTTTTAGAAATAAATTGATCGTTTTTGTGATTTTATTGAC
TTCCTTGTTCGTTGTGGGTCTTGCTGAAGCTT----->pTZ sequence

HindIII

Figure 4

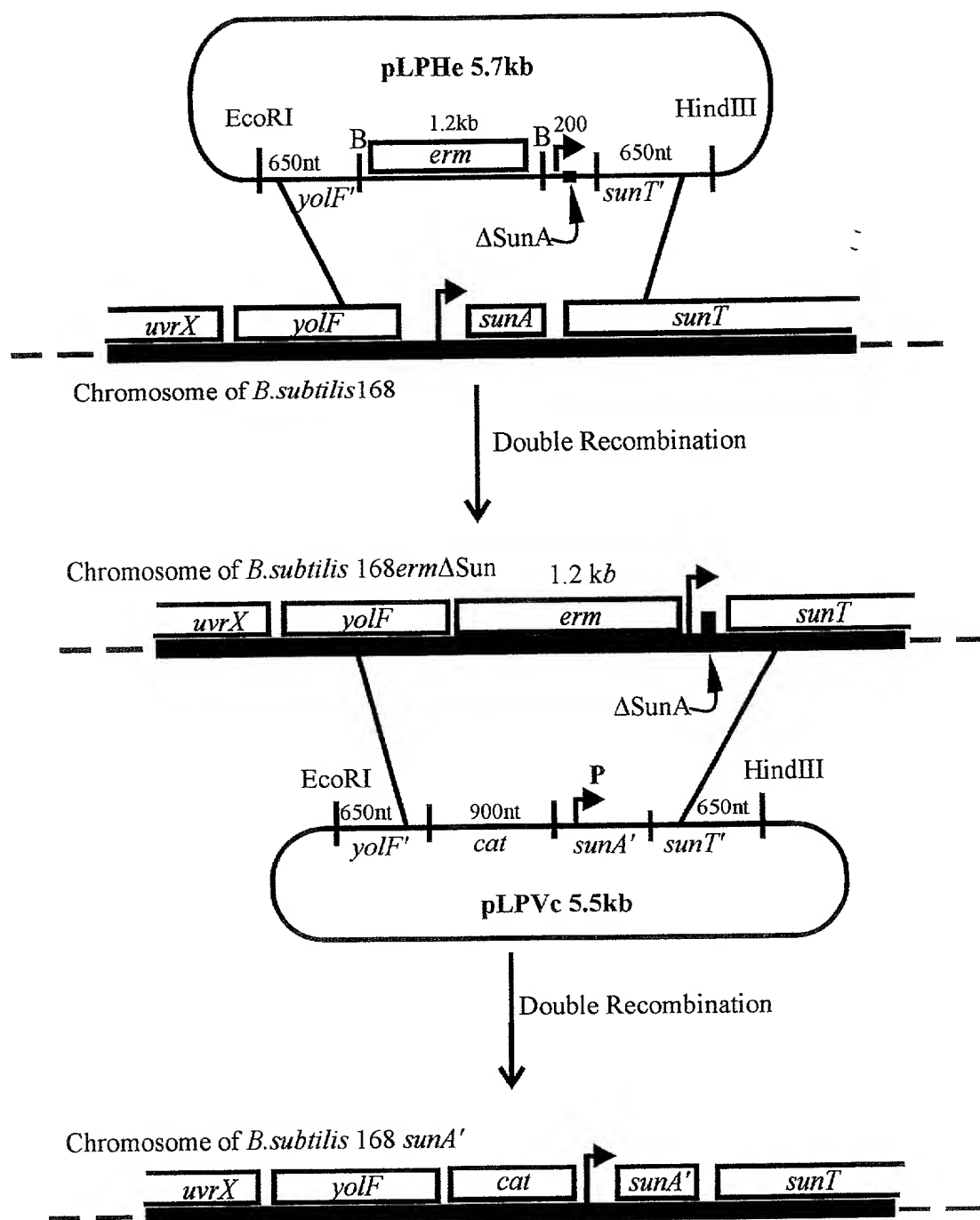


Figure 5

B. subtilis EΔSun

A



B. subtilis 168

B



B. subtilis 168 SunA'

Figure 6

← pLPcat

Sublancin leader→

TTGCAACAAATGGGGAGGTTTTACAA ATGGAAAAGCTATTTAAAGAAG
MetGluLysleuPheLysGluV

XhoI

sublancin prep-

TTAAACTCGAGGAACTCGAAAACCAAAAAGGTAGT GGATTAGGAAAAGC
AllLysLeuGluGluLeuGluAsnGluLysGlySer GlyLeuGlyLysAl

tide→

TCAGTGTGCTGCGTTGTGGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGGTT
aGlnCysAlaAlaLeuTrpLeuGlnCysAlaSerGlyGlyThrIleGlyC

KasI

Poly-

GTGGTGGCGGGCGCCGTTGCTTGTCAAACTATCGTCAATTCTGTAGAGGT
ysGlyGlyGlyAlaValAlaCysGlnAsnTyrArgGlnPheCysArgGly

glycine20→

BseRI

GGTGGTGGGGGAGGCGGGGGAGGGGGTGGTGGTGGAGGAGGTGGTGGTGG
GlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGly

subtilin leader→

XbaI

TGGTGGTATGTCAAAGTTCGATGATTTTCGATCTAGATGTTGTGAAAGTCT
yGlyGlyMetSerLysPheAspAspPheAspLeuAspValValLysValS

Stop

PstI

CTAAACAAGACTCAAAAATCACTCCGCAATAGAGTCCTGCAGATAAACAA
erLysGlnAspSerLysIleThrProGln *

pLPcat →

Figure 7

